

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Media Nutrient Agar

Media Nutrient Agar (NA) merupakan media kultur bakteri yang paling umum digunakan di laboratorium mikrobiologi. Media ini digunakan untuk berbagai keperluan seperti isolasi, pengawetan, dan pemeliharaan mikroorganisme. NA banyak dipilih karena mudah dibuat, stabil, dan mampu menyediakan nutrisi dasar yang dibutuhkan mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang (Putra et al., 2021).

Komposisi utama dalam NA meliputi pepton (0,5%) sebagai sumber nitrogen organik yang kaya asam amino dan peptida, serta ekstrak daging sapi (0,3%) yang menyuplai karbohidrat, vitamin, dan mineral penting. Natrium klorida (0,5%) ditambahkan untuk menjaga tekanan osmotik agar sel mikroorganisme tetap stabil. Agar (1,5%) berfungsi sebagai pemadat media yang tidak dicerna oleh mikroorganisme, sementara udara (98,2%) berperan sebagai pelarut utama yang membantu menciptakan media homogen dan siap digunakan (Putra et al., 2021).

2.2 Media Alternatif

Media alternatif merupakan media pertumbuhan yang dibuat dari bahan alami atau non-komersial, sebagai pengganti media standar seperti Nutrient Agar yang harganya relatif mahal. Penggunaan media ini bertujuan untuk menekan biaya, terutama dalam kegiatan pendidikan dan penelitian dengan anggaran terbatas. Selain lebih ekonomis, media alternatif juga memanfaatkan bahan-bahan lokal yang mudah diperoleh dan tetap mampu mendukung pertumbuhan mikroorganisme secara efektif (S. Wahyuni et al., 2024).

Beberapa contoh bahan alami yang sudah banyak diteliti antara lain ubi rambat, singkong, kentang, umbi lontar, dan sagu. Penggunaan bahan-bahan tersebut sebagai media alternatif bertujuan untuk mengurangi biaya operasional laboratorium sekaligus memanfaatkan sumber daya lokal yang melimpah. Sebagai contoh penelitian oleh (M.S et al., 2019) menunjukkan bahwa tepung limbah ikan cakalang dapat digunakan sebagai media alternatif yang mampu mendukung pertumbuhan mikroorganisme dengan efektivitas yang hampir setara dengan

Nutrient Agar. Selain itu, penelitian oleh (Shari & Lestari, 2024) juga melaporkan bahwa media berbahan dasar ubi rambat dan singkong mampu mendukung pertumbuhan bakteri dengan baik serta secara signifikan menurunkan biaya produksi.

2.3 Glukosa

Glukosa adalah salah satu jenis monosakarida atau gula sederhana yang merupakan sumber energi utama bagi sel makhluk hidup. Dalam bentuk alaminya, glukosa banyak ditemukan dalam tumbuhan, termasuk biji-bijian, sebagai hasil dari proses fotosintesis (Fitri & Fitriana, 2020). Monosakarida seperti glukosa langsung digunakan oleh mikroorganisme, sementara disakarida dan polisakarida memerlukan enzim khusus untuk dijelaskan terlebih dahulu (Yunianto et al., 2021).

Dalam mikrobiologi, glukosa berperan penting sebagai sumber karbon dan energi yang mudah dimetabolisme oleh mikroorganisme. Glukosa digunakan dalam berbagai media pertumbuhan untuk mendukung aktivitas metabolik dan reproduksi bakteri. Kehadirannya dalam media kultur dapat merangsang pertumbuhan koloni mikroba, karena banyak bakteri, seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, mampu memanfaatkan glukosa melalui jalur glikolisis untuk menghasilkan ATP yang diperlukan dalam berbagai proses biologis (Anisah & Rahayu, 2015).

2.4 Protein

Protein adalah makromolekul biologis yang tersusun dari asam amino yang berperan dalam berbagai fungsi biologis, termasuk sebagai enzim, hormon, dan komponen struktural sel. Dalam mikroorganisme, protein berfungsi sebagai katalis dalam reaksi biokimia, regulator metabolisme, serta sebagai elemen penting dalam mekanisme transportasi dan komunikasi seluler (Probosari, 2019).

Protein memainkan peran krusial dalam pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme. Sebagai sumber nitrogen utama, protein digunakan untuk sintesis enzim, hormon, serta berbagai molekul lain yang mendukung kelangsungan hidup sel. Mikroorganisme mengandalkan protein untuk berbagai

proses, termasuk transportasi nutrisi, replikasi DNA, serta produksi energi melalui jalur metabolisme tertentu (Nurhidayanti, 2022).

2.5 Biji Saga

2.6.1 Deskripsi Umum Biji Saga

Biji saga (*Adenanthera pavonina*), dikenal juga sebagai saga telik atau saga rambat, merupakan tanaman dari famili Fabaceae yang tumbuh subur di wilayah tropis seperti Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Biji ini berukuran kecil, bulat, dan berwarna merah cerah dengan titik hitam khas, sehingga mudah dikenali dan banyak ditemukan di hutan atau lahan tidak terawat (Nur Edi, 2022). Meskipun secara visual menarik, biji saga mengandung racun bernama abrin yang sangat berbahaya jika tertelan, karena dapat menghambat sintesis protein dalam sel dan menyebabkan kerusakan organ. Namun, selama bijinya tidak pecah, biji saga relatif aman karena kulit bijinya yang keras sulit dicerna, sehingga racunnya tidak mudah terlepas (Juniarti et al., 2010).

2.6.2 Klasifikasi Biji Saga

Tanaman pohon saga (*Adenanthera pavonina*) merupakan anggota famili Fabaceae, kelompok polong-polongan yang dikenal mampu bersimbiosis dengan bakteri mengikat nitrogen di akarnya. Secara taksonomi, tanaman ini termasuk dalam Kingdom Plantae, Divisi Magnoliophyta (tumbuhan berbunga berpembuluh), Kelas Magnoliopsida (tumbuhan dikotil), dan Ordo Fabales, yang mencakup tumbuhan dengan buah berbentuk polong. Genus *Adenanthera* mencakup tanaman berbunga dengan biji keras, dan spesies *Adenanthera pavonina* dikenal karena bijinya yang merah cerah. Biji ini memiliki potensi sebagai sumber bahan alami untuk berbagai keperluan, baik di bidang pangan, kesehatan, maupun industri (Nur Edi, 2022).

2.6.3 Morfologi Biji Saga

Biji saga dapat dikenali dari bentuk, ukuran, warna, dan ciri fisik lainnya. Biji saga berbentuk bulat agak pipih dengan diameter sekitar 6 hingga 8 milimeter. Permukaan biji saga halus dan mengkilap dengan warna merah terang yang mencolok serta memiliki titik hitam pada salah satu sisinya. Titik hitam ini merupakan bekas tempat biji menempel pada polongnya, sehingga menjadi ciri khas biji saga yang mudah dikenali. Kulit biji saga sangat keras dan sulit

dihancurkan, sehingga biji ini cenderung tetap utuh meskipun berada di lingkungan yang keras (Aprilia et al., 2020). Biji ini tersusun dalam buah berbentuk polong yang berwarna coklat tua ketika sudah matang dan mengering. Setiap polong saga biasanya mengandung 8 hingga 12 biji yang tersusun rapi di dalamnya (Mumpuni, 2010).

2.6.4 Kandungan Nutrisi Biji Saga

Biji saga memiliki kandungan nutrisi yang cukup beragam dan bermanfaat yaitu, protein (30,6 g per 100 g), karbopohidrat (85,6 g), lemak rendah (1,1 g) serta mineral penting seperti fosfor (161 mg) dan kalsium (1.062) yang baik untuk kesehatan jantung (Nugraha & Seta, 2009).

Selain nutrisi dasar, biji saga juga mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolik, dan tanin yang memiliki sifat antioksidan dan antimikroba serta mengandung asam amino esensial seperti leusin, isoleusin dan valin yang penting untuk pertumbuhan (Aprilia et al., 2020).

Biji saga memiliki keunggulan dalam penggunaannya sebagai media pertumbuhan mikroorganisme karena sifatnya yang mudah diperoleh, murah, dan kaya nutrisi. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa biji saga dapat mendukung pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme, terutama bakteri asam laktat yang berperan dalam fermentasi pangan dan probiotik (Maharani et al., 2023).



Gambar 2. 1 Biji Saga

Sumber: (Nur Edi, 2022)

2.6.5 Tepung dan Infusum Biji Saga

Tepung biji saga merupakan hasil olahan biji saga (*Adenanthera pavonina*) yang dikeringkan dan digiling hingga menjadi serbuk halus berwarna putih kekuningan dengan tekstur lembut dan aroma ringan (Mumpuni, 2010). Tepung

ini memiliki keunggulan dalam hal penyimpanan dan transportasi karena bentuknya yang kering dan padat, serta tahan lama jika disimpan di tempat tertutup dan bersuhu rendah. Selain itu, tepung biji saga mudah dicampurkan dengan bahan lain, sehingga fleksibel digunakan dalam media padat maupun semi padat (Dr. Suryasatriya Trihandaru et al., 2017).

Infusum biji saga adalah larutan ekstrak biji saga menggunakan air sebagai pelarut. Infusum ini berwarna keruh kecoklatan dan memiliki aroma khas ringan, serta mengandung nutrisi penting seperti protein, karbohidrat, flavonoid, dan senyawa fenolik yang larut selama proses ekstraksi. Kandungan nutrisinya mendukung pertumbuhan mikroorganisme, terutama dalam media cair. Namun, infusum memiliki daya simpan yang lebih pendek dibandingkan tepung, sehingga perlu disimpan pada suhu rendah untuk menjaga kestabilannya (Putri Arnanda et al., 2020).

2.6 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

2.6.1 Pengertian High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan teknik pemisahan berdasarkan perbedaan polaritas, ukuran, dan interaksi kimia dengan fase diam dan fase gerak di bawah tekanan tinggi. HPLC digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur konsentrasi senyawa dalam campuran, serta banyak diterapkan dalam bidang biokimia, farmasi, dan analisis pangan (Sylvia et al., 2021). Detektor, seperti UV-Vis, membaca senyawa yang terelusi dan menghasilkan kromatogram. Dari waktu retensi dan luas puncak pada kromatogram, konsentrasi senyawa dapat dihitung dengan membandingkannya dengan standar (Angraini & Desmaniar, 2020).

Menurut penelitian oleh K. Ratnayani et al. (2008), analisis kadar glukosa dan fruktosa pada madu randu dan madu kelengkeng menggunakan metode HPLC berhasil menunjukkan bahwa masing-masing sampel mengandung konsentrasi karbohidrat sederhana yang cukup tinggi, yaitu glukosa sebesar 27,13–28,09% dan fruktosa sebesar 40,03–40,99%. Hasil ini menunjukkan bahwa metode HPLC efektif digunakan dalam mengidentifikasi dan mengukur kadar glukosa pada bahan pangan alami.

2.6.2 Prinsip Kerja

Prinsip kerja *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) didasarkan dengan menggunakan perbedaan afinitas senyawa terhadap fase gerak dan fase diam. Proses dimulai dengan pemompaan fase gerak kedalam sistem dilanjutkan dengan injeksi sampel. Sampel tersebut kemudian masuk kedalam kolom kromatografi yang berisi fase diam. Dimana senyawa senyawa akan berinteraksi dengan fase diam dan fase gerak tersebut. Senyawa yang lebih tertahan oleh fase diam akan keluar lebih lama, sedangkan senyawa yang lebih larut dalam fase gerak akan keluar lebih cepat. Setelah pemisahan, senyawa akan terdeteksi oleh detektor yang memunculkan kromatogram dan konsentrasi senyawa ditentukan dari luas area puncak yang dibandingkan dengan larutan standar (Unique, 2016).

2.7 Spektrofotometer UV-Vis

2.7.1 Pengertian Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah metode analisis kuantitatif untuk mengukur konsentrasi zat berdasarkan penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu di daerah UV atau tampak. Semakin tinggi konsentrasi zat, semakin besar nilai serapannya karena semakin banyak cahaya yang diserap oleh sampel (A. M. Wahyuni et al., 2022). Teknik ini sering digunakan untuk analisis protein, karena asam amino seperti triptofan, tirosin, dan fenilalanin menyerap cahaya pada 280 nm, sedangkan ikatan peptida menyerap pada 190–220 nm. Pengukuran kadar protein dapat dilakukan dengan cepat menggunakan kurva standar (Probosari, 2019).

Penelitian oleh Sylvia et al. (2021), menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis untuk menganalisis kadar protein dalam daun jambu biji. Diperoleh kadar protein sebesar 0,142% pada daun tua dan 0,053% pada daun muda. Penggunaan spektrofotometer terbukti mampu mengukur kadar protein secara kuantitatif dalam sampel tumbuhan.

2.7.2 Prinsip Kerja

Prinsip kerja alat ini melibatkan interaksi antara cahaya dan zat yang dianalisis, Dimana setiap zat memiliki kemampuan menyerap cahaya pada gelombang tertentu. Setiap senyawa menunjukkan pola penyerapan yang unik, sehingga pemilihan Panjang gelombang dilakukan berdasarkan nilai serapan tertinggi. Semakin besar cahaya yang diserap, maka semakin tinggi pula konsentrasi zat tersebut. Untuk memperoleh hasil yang presisi, konsentrasi sampel dibandingkan dengan larutan standar setelah proses kalibrasi dilakukan menggunakan blanko (Amiliza Miarti & Leni Legasari, 2022).